



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Farmacia y Bioquímica**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

**Evaluación de ácidos grasos y actividad antioxidante in  
vitro del aceite de la semilla de *Annona muricata*  
(Guanábana)**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

**AUTOR**

**José Carlos TORRES CASTILLO**

**ASESOR**

**José Fidel JAUREGUI MALDONADO**

**Lima, Perú**

**2019**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

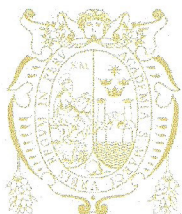
Torres, J. Evaluación de ácidos grasos y actividad antioxidante in vitro del aceite de la semilla de *Annona muricata* (Guanábana) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2019.

---

## HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

<b>INFORMACIÓN GENERAL</b>	
Título del Proyecto	Evaluación de ácidos grasos y actividad antioxidante <i>in vitro</i> del aceite de la semilla de <i>Annona muricata</i> (guanábana)
Área de investigación (*)	Ciencias Farmacéuticas
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Jr. Puno N°1002-Lima-Perú
Institución que financia si corresponde	Ninguna
Año o rango de años que abarcó	2017-2019
<b>DATOS DEL TESISISTA</b>	
Apellidos y Nombres	Torres Castillo, José Carlos
Número de matrícula	09040077
DNI	42338962
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	Egresado
Código ORCID (opcional)	
<b>DATOS DEL ASESOR</b>	
Apellidos y Nombres	Jáuregui Maldonado, José Fidel
Código docente: 091251 Categoría: Asociado Clase: Tiempo completo	
Máximo grado alcanzado	
Código ORCID (obligatorio)	0000-0003-1796-2030
Título profesional	Químico Farmacéutico
Departamento Académico al que pertenece	Farmacotécnica y administración farmacéutica
Instituto de investigación al que pertenece	Ciencias Farmacéuticas Juan de Dios Guevara
Grupo de investigación al que pertenece Indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	

(\*) Según documentos oficiales de la Facultad



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
Universidad del Perú. Decana de América  
**Facultad de Farmacia y Bioquímica**  
**Decanato**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"Evaluación de ácidos grasos y actividad antioxidante *in vitro* del aceite de la semilla de *Annona muricata* (Guanábana)"**

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:


**JOSÉ CARLOS TORRES CASTILLO**


Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

17 SOBRESALIENTE

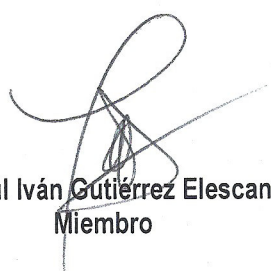
en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 02 de agosto de 2019.

  
**Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera**  
Presidente

  
**Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo**  
Miembro

  
**Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar**  
Miembro

  
**Q.F. Paúl Iván Gutiérrez Elescano**  
Miembro

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**



## **DEDICATORIA**

Se la dedico al forjador de mi camino,  
al Padre celestial que me ayudo cuando me decaía,  
Al que me dio la mano y consuelo cuando sentía que todo estaba destinado.

A mis Padres Víctor y Norma que nunca dudaron en darme  
la mano cuando más lo necesitaba y apoyarme incondicionalmente.

A mis hermanos Víctor y Paulo que son mis ejemplos a seguir para  
buscar mí superación profesional.

A mi querida esposa Lisseth, que siempre estuvo motivándome a seguir,  
cuando veía que me estancaba en las dificultades para llegar a esta meta.

Y a mí muy querido hijo Mateo, que me abrazaba cuando  
me veía que estaba estresándome y  
con ello me daba tranquilidad para seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al QF. José Fidel Jáuregui Maldonado, asesor de la presente Tesis, por confiar en mi desempeño, responsabilidad y por brindarme su apoyo profesional.

Al Dr. Cesar Máximo Fuertes Ruiton por compartir sus conocimientos.

A la QF. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa y asistente, por confiar en mi apoyándome con el Laboratorio de Farmacognosia.

Al Dr. Américo Castro Luna y asistente, por su colaboración y confianza.

A la Dra. Rosario Rojas Durán, Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Cayetano Heredia.

## ÍNDICE

Página

<b>RESUMEN</b>	viii
<b>SUMMARY</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1. Objetivos	2
<b>II. GENERALIDADES</b>	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Especie botánica	5
2.3. Ácidos Grasos	7
2.5. Radicales libres y antioxidantes	10
2.4 Estrés oxidativo	14
<b>III. PARTE EXPERIMENTAL</b>	15
3.1. Diseño del trabajo experimental	15
3.2. Materiales, equipos y reactivos	16
3.3. Métodos	19
3.3.1. Recolección e identificación del material botánico	19
3.3.2. Extracción del aceite de la semilla de <i>Annona muricata</i> (guanábana)	19
3.3.3. Análisis fisicoquímico	20
3.3.4. Determinación de ácidos grasos	23
3.3.5. Determinación de la actividad antioxidante	24
3.3.5.1. Método de DPPH	24
3.3.5.2. Método de ABTS	26
3.4. Análisis estadístico	26
<b>IV. RESULTADOS</b>	28
4.1. Extracción de aceite de la semilla de <i>Annona muricata</i>	28
4.2. Análisis fisicoquímico	28
4.3. Determinación de ácidos grasos	30
4.4. Determinación de la actividad antioxidante	31
<b>V. DISCUSIONES</b>	33
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	39
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	40
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	41
<b>IX. ANEXOS</b>	48



## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1:** Ácidos grasos saturados.

**Tabla 2:** Ácidos grasos insaturados.

**Tabla 3:** Rendimiento de la semilla de *Annona muricata*.

**Tabla 4:** Índice de saponificación.

**Tabla 5:** Índice de acidez.

**Tabla 6:** Índice de refracción.

**Tabla 7:** Índice de yodo.

**Tabla 8:** Índice de peróxido

**Tabla 9:** Densidad relativa.

**Tabla 10:** Solubilidad.

**Tabla 11:** Concentración relativa detallada de los ácidos grasos.

**Tabla 12:** Concentración relativa por tipo de ácidos grasos.

**Tabla 13:** IC<sub>50</sub> DPPH del aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana) y Trolox®.

**Tabla 14:** IC<sub>50</sub> ABTS del aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana) y Trolox®.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Fruto de guanábana.

**Figura 2:** Semilla de guanábana.

**Figura 3:** Tipos de ácidos grasos.

**Figura 4:** Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.

**Figura 5:** Estructura del ABTS<sup>•+</sup> antes y después de la reacción con el antioxidante.

**Figura 6:** Certificado de clasificación taxonómica de la *Annona muricata*.

**Figura 7:** Semilla de *Annona muricata* (guanábana).

**Figura 8:** Semilla molida.

**Figura 9:** Aceite de la semilla.

**Figura 10:** Cromatograma de ácidos grasos del aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana).

**Figura 11:** Curva de la actividad antioxidante por DPPH del aceite.

**Figura 12:** Curva de la actividad antioxidante por DPPH de Trolox<sup>®</sup>.

**Figura 13:** Curva de la actividad antioxidante por ABTS del aceite.

**Figura 14:** Curva de la actividad antioxidante por ABTS de Trolox<sup>®</sup>.

## ABREVIATURAS

**msnm:** Metros sobre el nivel del mar.

**HDL:** High density lipoproteins (lipoproteínas de alta densidad).

**LDL:** Low density lipoproteins (lipoproteínas de baja densidad).

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**OPS:** Organización Panamericana de la Salud.

**EROS:** Especies reactivas del oxígeno.

**OH:** Radical hidroxilo.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrogeno.

**O<sub>2</sub>:** Anión superóxido.

**<sup>1</sup>O<sub>2</sub>:** Oxígeno singlete.

**NO:** Óxido nítrico.

**ROO:** Radical peróxido.

**Q:** Semiquinona.

**BHA:** Butilhidroxianisol.

**BHT:** Butilhidroxitolueno.

**TBHA:** Terbutilhidroquinona.

**PG:** Galato de propilo.

**EQ:** Etoxiquina.

**EDTA:** Ácido etilendiaminotetracético.

**DPPH:** 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.

**ABTS:** [Ácido 2.2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico].

**DMSO:** Dimetilsulfóxido.

## RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar los ácidos grasos y determinar la actividad antioxidante del aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana).

Estas semillas son consideradas como residuos en las industrias alimentarias, por ello, se busca el aprovechamiento extrayendo el aceite para poder estudiarla y darle una utilidad o un beneficio para el ser humano.

La extracción del aceite se realizó por el método de solventes Bligh & Dyer donde se obtuvo un rendimiento del 13,6%. Después se procedió a caracterizar al aceite realizando pruebas fisicoquímicas en donde los índices fueron: de saponificación fue de 182,15 (mg de KOH/g de aceite); de acidez, 0,854 (mg de KOH/ g de aceite); de refracción, 1,414 a 27.9°C; de yodo, 103,195 (g yodo/100g de aceite); de peróxido, 3,56 (mEq O/kg de aceite); densidad relativa, 0,903326 a 20°C y soluble en el sistema de solventes de n-butanol y etanol absoluto (1:1).

La evaluación de ácidos grasos se realizó por cromatografía de gases en donde se obtuvo como resultado: ácidos grasos saturados 24,9%; monoinsaturados 43% y poliinsaturados 32,1%. Teniendo como mayor cantidad a los ácidos grasos: oleico (41,51%) y linoleico (31,24%) por lo que se considera al aceite una fuente rica en ácidos grasos esenciales.

Con respecto a la determinación de la actividad antioxidante se realizó por dos métodos, el DPPH que obtuvo como IC<sub>50</sub> 6938 µg/mL con un TEAC de 301,387 µg de Trolox<sup>®</sup>/g de aceite y ABTS con un IC<sub>50</sub> de 8385 µg/mL con un TEAC de 331,430 µg de Trolox<sup>®</sup>/g de aceite. Lo que nos indica que la actividad antioxidante del aceite no es significativa con respecto al estándar Trolox<sup>®</sup>.

**Palabras clave:** Ácidos grasos, actividad antioxidante.

## SUMMARY

The objective of this investigation was to evaluate the fatty acids and determine the antioxidant activity of the seed oil of *Annona muricata* (guanábana).

These seeds are considered as waste in the food industries, therefore, the exploitation is sought by extracting the oil to be able to study it and give it a utility or a benefit for the human being.

The extraction of the oil was done by the Bligh & Dyer solvent method, where a yield of 13.6% was obtained. After a characterization procedure in the oil, physicochemical tests were performed where the indices were: saponification was 182.15 (mg of KOH / g of oil); of acidity, 0.854 (mg of KOH / g of oil); of refraction, 1414 to 27.9 ° C; of iodine, 103,195 (g iodine / 100 g of oil); of peroxide, 3.56 (mEq O / kg of oil); Relative density, 0.903326 at 20 ° C and soluble in the solvent system of n-butanol and absolute ethanol (1:1).

The evaluation of fatty acids was carried out by gas chromatography, where the result was: saturated fatty acids 24.9%; 43% monounsaturated and 32.1% polyunsaturated. Taking as a major quantity the fatty acids: oleic (41.51%) and linoleic (31.24%).

With respect to the determination of antioxidant activity was performed by two methods, DPPH was obtained as IC<sub>50</sub> 6938 µg / mL with a TEAC of 301,387 µg Trolox® / g oil and ABTS with an IC<sub>50</sub> of 8385 µg / mL with a TEAC of 331,430 µg of Trolox® / g of oil. What indicates the antioxidant activity of the oil is not significant with respect to the Trolox® standard

**Key words:** Fatty acids, antioxidant activity.

## I. INTRODUCCIÓN

Las culturas de los pueblos oriundos del Perú tienen mucho conocimiento empírico de la utilización de plantas que ayudan a restaurar la salud de su pueblo, estas plantas en la actualidad reciben el nombre de plantas medicinales y se estima que en el Perú existen 2500 plantas que tiene por lo menos una propiedad medicinal<sup>(1)</sup>.

La medicina convencional o química se ha desarrollado en la actualidad dando muchas alternativas terapéuticas para el tratamientos de diversas enfermedades como la diabetes, hipertensión, hipotiroidismo, hipertiroidismos, entre otras; pero, así como alivian las enfermedades, ocasionan problemas en otros órganos que al inicio del tratamiento estaban en buen estado como es el caso del estómago y el hígado; y es por eso que la mayoría de las personas recurren a la medicina natural como una alternativa terapéutica, aunque existan una gran variedad de plantas con propiedades que no están estudiadas<sup>(2)</sup>, una de estas plantas es la *Annona muricata* (guanábana) que se caracteriza por sus propiedades de ser anticancerígena, antitumorales, antiespasmódica, sedativa, asma, hipertensión, diabetes, desordenes del hígado, diarrea y contra parásitos<sup>(3)</sup>.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar los ácidos grasos y determinar la actividad antioxidante *in vitro* del aceite extraído de la semilla de *Annona muricata* (guanábana) recolectadas en Mazamari, Junín; y así aprovechar los desechos residuales de esta fruta procedentes de la industria fructífera, para elaboración de yogurt, mermeladas, etc.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo general**

Evaluar los ácidos grasos y actividad antioxidante *in vitro* del aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana)

### **1.1.2 Objetivos específicos**

1. Extraer y caracterizar el aceite de la semilla de *Annona muricata* por el método de Bligh y Dyer.
2. Evaluar los ácidos grasos del aceite de la semilla de *Annona muricata*.
3. Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del aceite de la semilla de *Annona muricata*.

## II. GENERALIDADES

### 2.1. Antecedentes

Las semillas de la *Annona muricata* (guanábana) y *Annona cherimolia* (chirimoya) son residuos del procesamiento industrial de estos frutos, que alcanza miles de toneladas por año convirtiéndose en un factor de contaminación ambiental. Se han realizados estudios con respecto al fruto, pero no con la semilla por lo cual se pensaba que no tenían utilidad alguna, no obstante, en esta investigación se demostró que poseen un contenido de aceite (22%) similar a la semilla de algodón (23%) y la soya (18%) y más alto que el maíz (5%) <sup>(4)</sup>.

Un grupo interdisciplinario de investigación de la Universidad Nacional de Colombia comprobó que el aceite de las semillas de la *Annona muricata* (guanábana) extraídas por el método de solventes (hexano) tienen componentes apetecidos por las industrias farmacéuticas y servirán para elaborar cremas humectantes <sup>(5)</sup>.

La *Annona muricata* L. (guanábana) es una fruta tropical con interés actual por sus propiedades medicinales. Se comparó la composición proximal y la actividad antioxidante entre la pulpa, hojas frescas y secas, y semilla de la guanábana. Los mayores contenidos de proteínas (14,77g/100g) se encontraron en la semilla. La pulpa demostró mayor contenido de humedad (86,32g/100g) y las hojas secas el mayor contenido de cenizas (7,17g/100g). La actividad antioxidante de las fracciones estudiadas fue mayor en extractos etanólicos que en metanólicos, al igual que en el



contenido de flavonoides y polifenoles. Los mayores valores de la actividad antioxidante en los extractos etanólicos fueron de 306,0; 280,2 y 131,2  $\mu$ mol equivalentes Trolox<sup>®</sup>/100g en la pulpa, hojas secas y semillas respectivamente. La pulpa presento mayor contenido de flavonoides (574mg EQ/100g) y de polifenoles (941,4mg EAG/100g) <sup>(6)</sup>.

El 60% de la *Annona muricata* (guanábana) es pulpa y el resto es cáscara y semilla las cuales se desechan, sin tener en cuenta que las pepas pueden ser utilizadas en la farmacología e industria. Según estudios realizados por el docente del Departamento de Química de la Universidad del Valle, Jaime Restrepo y su discípulo José David Martínez, de la semilla determinaron que se puede extraer aceites después de un proceso de secado y molienda para luego proceder la extracción por solventes orgánicos; también se determinó que presentaban ácidos grasos como el linoleico y oleico <sup>(7)</sup>.

El rendimiento total del aceite y los tipos de ácidos grasos se determinaron en el aceite fijo de *Annona muricata* utilizando solventes orgánicos y GC-FID. Se encontraron catorce ácidos grasos, los principales son: monoinsaturados y saturado ácido linoleico (39,2%), ácido palmítico (19,1-19,2) respectivamente; polinsaturados, ácido linolénico (1,2%) y ácido linoleico (33,9%); también se encontró otros ácidos grasos saturados como ácido esteárico (3,3%), ácido araquidónico (0,4%), ácido mirístico (0,1%), ácido heptadecanoico (0,1%), ácido behénico (0,15) y ácido lignocérico (0,1%) <sup>(8)</sup>.

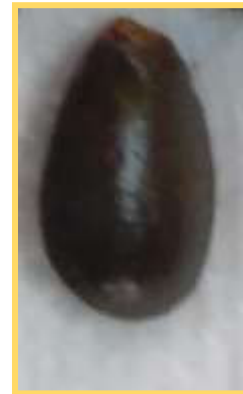
## Especie botánica

### 2.2.1 Clasificación taxonómica

- **Reino:** Plantae.
- **División:** Magnoliophyta.
- **Clase:** Magnoliopsida.
- **Sub clase:** Magnoliidae.
- **Orden:** Magnoliales.
- **Familia:** Annonaceae.
- **Género:** *Annona*.
- **Especie:** *Annona muricata* L.
- **Nombre vulgar:** “Guanábana”



**Figura 1:** Fruto de la guanábana



**Figura 2:** Semilla de guanábana

### 2.2.2 Descripción morfológica

Es un árbol pequeño de casi 10m de altura, de follaje compacto, hojas simples, coriáceas verde oscuro, grandes y brillantes; el fruto es un sincarpio ovoide, a menudo encorvado debido a la deficiencia de polinización de los carpelos en el lado cóncavo. Mide entre 14-20 cm de largo y entre 10-20 cm de ancho, llegando a pesar hasta 4kilos. La cáscara es verde oscuro, brillante y delgada. La pulpa es blanca, jugosa y su sabor es agridulce a dulce <sup>(9)</sup>. “La semilla es obovoideas y aplanadas miden de 15 – 20mm de largo y tiene una testa dura y brillante de color marrón oscuro” <sup>(10)</sup>.

### 2.2.3 Hábitat y distribución geográfica

La *Annona muricata* (guanábana) es una planta originaria de la parte tropical de Sudamérica introducida también en otros países, su desarrollo y producción es entre 0-1000 msnm, pero su altitud óptima es de 300-500 msnm. Es sensible a temperaturas frías; por lo tanto, su producción es baja en esas zonas <sup>(11)</sup>.

En el Perú encontramos producción en los departamentos de Junín, La Libertad, Ucayali, Loreto y Lima <sup>(12)</sup>.

### 2.2.4 Usos

Propiedades antitumorales, anticancerígenos (próstata, colón, riñón, mamario, etc.), asma, hipertensión, diabetes, diarrea, antiparasitario, etc. <sup>(13)</sup>. “Las hojas y as semillas presentan

propiedades antiparasitarias, antibacterial, pediculicida, antidiarreicas y antitumorales” <sup>(14)</sup>.

### **2.3 Ácidos grasos**

Son cadenas hidrocarbonadas largas que presentan un grupo carboxílico al extremo <sup>(15)</sup>. “Se caracterizan por presentar enlaces simples y dobles, los ácidos grasos simples son los que carecen de enlaces dobles; por lo tanto, presentan una mayor temperatura de fusión a diferencia de los que presentan enlaces dobles, le confiere una gran estabilidad y que sean sólidos a temperatura ambiente” <sup>(16)</sup>; se encuentran en alimentos de origen animal, aunque también se localizan en alimentos de origen vegetal como los aceites de coco, palma y palmiste, también son llamados ácidos grasos saturados como por ejemplo el triestearato (componente común en la grasa animal); los ácidos grasos dobles son los que presentan en su cadena hidrocarbonada más de un enlace doble, lo que produce plegamientos en su estructura y provoca que sean líquidas a temperatura ambiente, existen dos subtipos de ácidos grasos insaturados, los monoinsaturados y los poliinsaturados, la diferencia radica en la cantidad de enlaces dobles que presenta en su estructura, como por ejemplo: ácido graso oleico, linoleico, linolénico, etc.

**Tabla 1** Ácidos grasos saturados (elaboración propia)  
(\*) Ácidos grasos más comunes en los alimentos

Ácidos grasos saturados		
Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula
Butírico	Butanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Caproico	Hexanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Caprílico	Octanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Cáprico	Decanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
Laurico*	Dodecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Mirístico*	Tetradecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmítico*	Hexadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Esteárico*	Octadecanoico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$

Los ácidos grasos monoinsaturados presentan un doble enlace en su estructura química, dentro de este grupo encontramos a la omega 9 que es muy importante para evitar enfermedades cardiovasculares, ya que aumenta el colesterol (HDL) y reduce el colesterol (LDL); reduce la hipertensión arterial, etc. “Los tipos más importantes son dos: El ácido oleico (presente en el aceite de oliva) y el ácido erúcido (encontrado en la canola)” <sup>(17)</sup>. No son considerados esenciales, ya que el cuerpo humano lo sintetiza.

Los ácidos grasos polinsaturados presentan dos o más enlaces dobles en la cadena hidrocarbonada que pueden reaccionar con el oxígeno del aire aumentando la probabilidad de enranciamiento de la grasa. Los pescados y algunos alimentos de origen vegetal son ricos en este tipo de ácidos grasos.



**Figura 3:** tipos de ácidos grasos [The European Food Information Center (EUFIC)]

El ácido linoleico (18:2) se encuentra en grandes cantidades en el aceite de girasol. Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados encontramos a los omega-3 (n-3) y omega-6 (n-6), en los que el primer doble enlace está situado junto al tercer átomo de carbono (ácidos grasos omega-3. Ejemplo: ácido linolénico) o junto al sexto átomo de carbono (ácidos grasos omega-6. Ejemplo: ácido linoleico) contando desde el metilo terminal de la cadena. Son conocidos como ácidos grasos esenciales, ya que el cuerpo humano no lo puede sintetizar.

**Tabla 2** Ácidos grasos insaturados (elaboración propia)  
(\*) Ácidos grasos más comunes en los alimentos

Ácidos grasos insaturados		
Nombre trivial	Nombre científico	Fórmula
Palmitoleico	Hexadeca-9-enoico	$C_{15}H_{29}COOH$
Oleico*	Octadeca-9-enoico	$C_{17}H_{33}COOH$
Linoleico*	Octadeca-9:12-dieno	$C_{17}H_{31}COOH$
Linolénico*	Octadeca-9:12:15-trienoico	$C_{17}H_{29}COOH$
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	$C_{19}H_{31}COOH$
Vaccénico	Trans-Octadeca-11-enoico	$C_{17}H_{33}COOH$

Los ácidos grasos *trans* se sintetizan mediante el proceso de hidrogenación, mediante el cual se incorpora hidrogeno al doble enlace de los ácidos grasos insaturados. Por lo que se caracterizan por ser más estables al enranciamiento oxidativo y por ello tienen un mayor tiempo de conservación, tienen un punto de fusión intermedio entre los ácidos grasos saturados e insaturados; sin embargo, estudios epidemiológicos y clínicos han demostrado que es perjudicial para la salud, ya que aumenta el colesterol (LDL) y reduce el colesterol (HDL), por ello la OMS y OPS recomiendan eliminarlas de la dieta o en el peor de los casos disminuir en lo posible su consumo < 1% <sup>(18)</sup>.

“Las sustancias grasas están formadas por ácidos grasos que representan un gran porcentaje (94-96) % combinados con glicerina (glicéridos), existen otros componentes que constituyen al aceite llamada fracción insaponificable en donde encontramos moléculas como tocoferoles, terpenos, esteroides, carotenoides, etc.; que representan el 0.3-2% con respecto al peso total del aceite; le brinda al aceite propiedades biológicas como antiinflamatorias, antioxidantes, etc.” <sup>(19)</sup>

## **2.4 Radicales libres y antioxidantes**

### **Radicales libres**

Químicamente se define como una especie química con capacidad de existencia independiente que posee un orbital desapareado, lo que le otorga una especial reactividad en capturar un átomo de otro orbital apareado de cualquier otra

molécula de su entorno ocasionando así que la molécula afectada quede inestable provocando una reacción en cadena <sup>(20)</sup>.

Los radicales libres se forman por procesos fisiológicos propios del organismo, a través de reacciones enzimáticas como la respiración celular, síntesis de prostaglandinas y el sistema de citocromo p450; pero también hay las no enzimáticas, como las reacciones del oxígeno con compuestos orgánicos, radiaciones ionizantes, el humo del cigarrillo, la luz solar, el shock térmico, algunos medicamentos como el paracetamol, la furosemida y tetracloruro de carbono; y sustancias que oxidan al glutatión, son grandes fuentes de radicales libres.

Las principales especies reactivas del oxígeno (EROS) o sustancias prooxidantes son: el radical hidroxilo (OH), peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ), anión superóxido ( $O_2^-$ ), oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), el óxido nítrico (NO), el radical peróxido (ROO), semiquinona (Q) y ozono <sup>(21)</sup>.

Los radicales libres se clasifican en radicales libres inorgánicos o primarios, radicales libres orgánicos o secundarios e intermedios estables relacionados con radical libre del oxígeno. Los radicales libres primarios son aquellos que se producen por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, se caracteriza por tener una vida media muy corta como por ejemplo: anión superóxido, radical hidroxilo y óxido nítrico; los radicales libres secundarios se puede originar de la transferencia de un electrón de un radical



primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, se caracterizan por tener una vida media mayor que los primarios. Los principales átomos de biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre; y por último los intermedios aquí se van a incluir especies químicas que sin ser radicales libres son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas como, por ejemplo: oxígeno singlete, peróxido de hidrogeno, ácido hipocloroso, peroxinitrito e hidroperóxidos orgánicos.

Efectos nocivos de los radicales libres producidos por EROS ocurre sobre diferentes macromoléculas:

**Lípidos:** Ocurre lo que se llama peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo (produce mayor daño) lo que provoca el deterioro de la membrana celular y por ende la muerte celular. “La peroxidación que acontece en la membrana mitocondrial afecta los componentes proteicos presentes en la cadena transportadora de electrones (CTE), lo que a su vez puede inhibir algunos procesos esenciales, tales como la síntesis de ATP, el transporte de metabolitos e iones y el bombeo de protones, provocando como resultado final la destrucción de la célula”. <sup>(22)</sup>

**Proteínas y carbohidratos:** “En proteínas y carbohidratos pueden ocasionar fragmentación con la pérdida de su función biológica, como por ejemplo los aminoácidos aromáticos como la cisteína se fragmentan en los enlaces disulfuro y peptídicos”. <sup>(23)</sup>

**Ácidos desoxirribonucleicos (ADN):** La molécula de ADN es uno de los principales blancos de los radicales libres en la célula, ataca principalmente en los grupos nucleofílicos de la desoxirribosa y las bases nitrogenadas lo que provoca un desbalance del homeostasis celular, lo que provoca modificaciones de las bases de ADN, mutaciones, ruptura de la cadena de ADN, daño endotelial que favorece la metástasis, etc. (24)

“Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen radicales libres. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismo de defensa que neutralicen a los radicales libres. A estas defensas se les denomina antioxidantes”. (25)

## **Antioxidantes**

“Son sustancias que retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de especies reactivas de oxígeno (EROS)” (26) donando electrones sin perder su estabilidad electroquímica. Se clasifican en dos grandes grupos, los endógenos y exógenos.

Antioxidantes endógenos: Encontramos tres enzimas que son fundamentales para para su actividad de las cuales tenemos a la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa)

Antioxidantes exógenos: Tenemos a la vitamina E, vitamina C, betacarotenos o provitamina A, flavonoides, licopenos los cuales se incorporan al organismo mediante la dieta.

Existen también antioxidantes naturales y sintéticos o artificiales; los primeros se encuentran en los alimentos y en la naturaleza, son importantes puesto que aparte de preservar la calidad nutricional de los productos que lo contienen ayuda a preservar la salud de las personas que lo consumen <sup>(27)</sup>.

“Entre los antioxidantes naturales tenemos a los carotenoides (caroteno, licopeno, luteína, etc.); tocoferoles (vitamina E, esteroides, etc.); ácidos fenólicos (gálico, vainillínico, etc.)” <sup>(28)</sup>; diterpenos (ácido carnósico, carnosol, etc.); flavonoides (rutina, quercetina, etc.) y “compuestos con azufre (allicina, etc.)” <sup>(29)</sup>. Por último, los antioxidantes sintéticos son los más utilizados en la industria alimentaria como, por ejemplo: “butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terbutilhidroquinona (TBHQ), galato de propilo (PG)” <sup>(30)</sup>, etoxiquina (EQ) y quelantes de metales como EDTA y ácido cítrico.

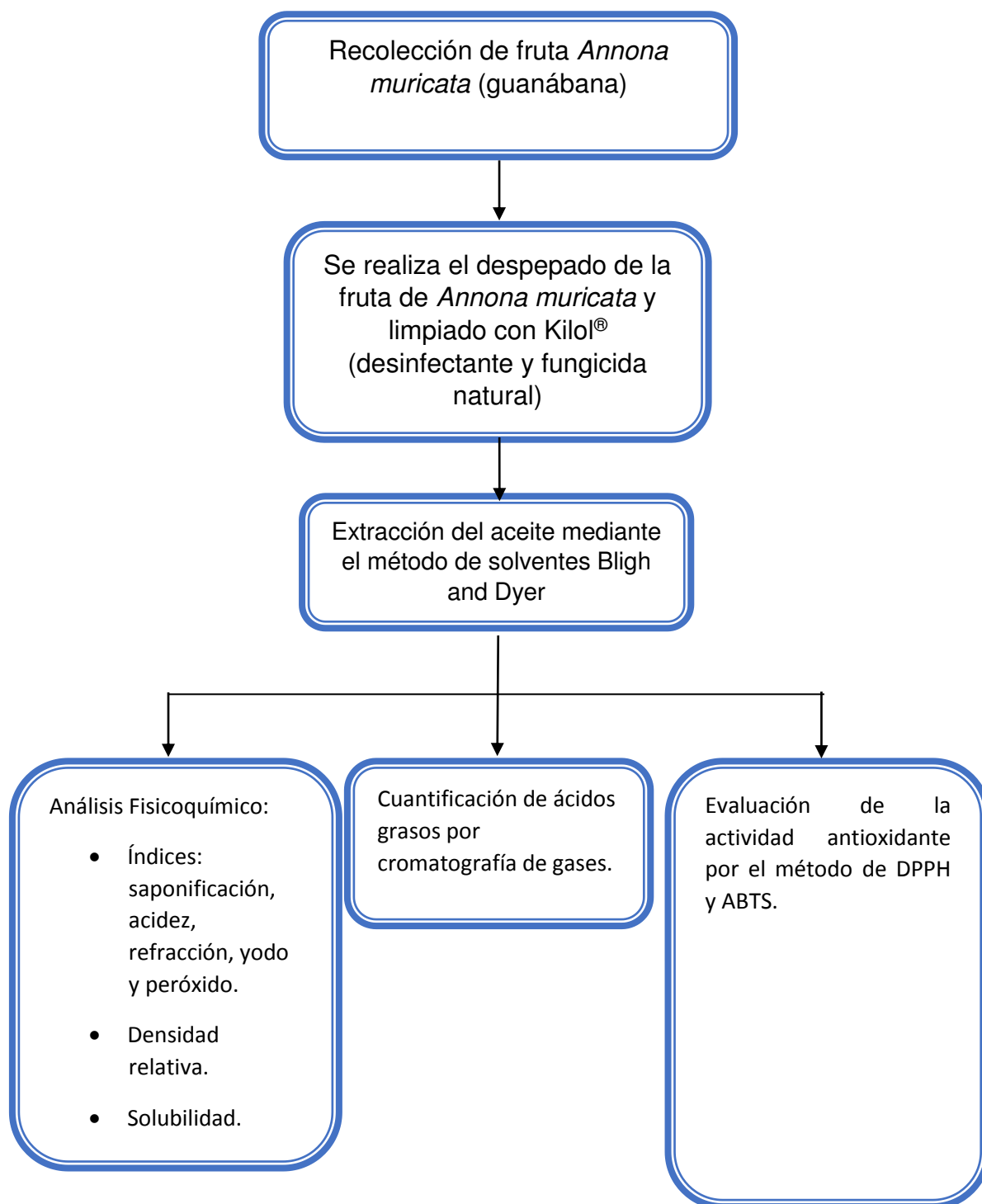
## **2.5 Estrés oxidativo**

“El oxígeno es una molécula muy importante para el organismo, ya que participa en muchas reacciones bioquímicas, lo encontramos en su estado triple en donde es poco reactiva y presenta una velocidad de reacción a temperatura fisiológica baja” <sup>(31)</sup>; sin embargo, por una

excesiva producción de radicales libres y especies reactivas, debido a agentes enzimáticos o radiaciones ionizantes, se produce un desequilibrio bioquímico, ya que existen mayor cantidad de radicales libres y especies reactivas que no puede ser contrarrestado por los antioxidantes de defensa. Esto produce envejecimiento celular y otros 100 padecimientos. Este daño celular se produce a nivel de las macromoléculas (lípidos, proteínas y ADN) esto produce una serie de enfermedades como la diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, insuficiencia renal aguda y crónica, Parkinson, Alzheimer, diversos tipos de cáncer, etc. <sup>(32)</sup>.

### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Diseño del trabajo experimental



## **3.2. Materiales, equipos y reactivos**

### **3.2.1. Material botánico**

Se recolectó 25kg de *Annona muricata* (guanábana) de Mazamari, provincia de Satipo, departamento de Junín.

### **3.2.2. Material**

Beacker, bagueta, bureta, celdas o cubetas para espectrofotómetro, embudo de Büchner, embudo simple, espátula, fiola 10mL, frasco ámbar, pera de decantación de 250mL, pipetas estériles de 2mL, probetas de 250mL, placa Petri grande, refrigerante en columna, matraz Kitasato de 500mL, matraz simple, Micropipetas, papel de aluminio, papel filtro y soporte universal.

### **3.2.3. Equipos**

Bomba de vacío BÜCHI Vac® V-500, balanza analítica M.R.C. BB-1550, campana extractora FRONTIER·DUO, centrifugadora, cocinilla eléctrica, espectrofotómetro GENESYS 10S UV.VIS, molidora manual CORONA, rotavapor BÜCHI R-205 y refractómetro.

### **3.2.4. Reactivos**

Ácido acético glacial, ácido clorhídrico (HCl) 0.5N, ABTS (2,2-azinobis-(3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico), agua destilada, cloroformo (CHCl<sub>3</sub>), cloruro de potasio (KCl) (s), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N, hidróxido de potasio (KOH) 0.1N y 0.01N, engrudo de almidón, etanol, fenoltaleína al 0.1% en etanol, metanol (CH<sub>3</sub>OH), n-butanol,

reactivo de Wijs, sol. Saturada de ioduro de potasio al 30%, tiosulfato de sodio (N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 0.01N y Trolox®.

### **3.3. Métodos**

#### **3.3.1. Recolección e identificación del material botánico**

Se recolectó la fruta de *Annona muricata* (guanábana) en Mazamari, provincia de Satipo, departamento de Junín, se escogió las que habían madurado bien y no se encontraba duro en alguna parte del fruto, se procedió al despepado y se lavó las semillas con un desinfectante y antifúngico natural llamado KiloI®.

#### **3.3.2. Extracción del aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana)**

##### **3.3.2.1. Método Bligh and Dyer**

Es uno de los métodos que se utiliza por tener un mayor rendimiento, además de tener resultados más rápido; sin embargo, existen otros métodos de extracción como el prensado en frío, Soxhlet, CO<sub>2</sub> supercríticos, etc. Se eligió el método de Bligh and Dyer, ya que se utilizan materiales que son fáciles de obtener y además son de menor costo. Uno de las desventajas de este método es la utilización de solventes muy tóxicos como el cloroformo y metanol que afectan a la capa de ozono y salud de la persona expuesta; se fundamenta en la formación de una sola fase (sistema monofásico) constituido por una mezcla de cloroformo,

metanol y agua obteniendo una relación de 2:2:1.8 que rápida y efectivamente disuelve los lípidos. El extracto se diluye luego con cloroformo y agua para formar un sistema bifásico, en donde la fase superior es la acuosa y la inferior es la fase clorofórmica en donde se encuentra los lípidos (33, 34, 35).

Las semillas de *Annona muricata* (guanábana) se molieron utilizando un molino manual, posteriormente se pesó 100g de muestra molida y se depositó en un vaso agitador, luego se agregó 100mL de cloroformo y 200mL de metanol y se agitó por 2min, posteriormente se adicionó 100mL de cloroformo, se agitó por 30 segundos más, finalmente se agregó 100mL de agua destilada y se agitó por 30 segundos más, se dejó en reposo por 5 min y se filtró al vacío. Este filtrado se depositó en una pera de decantación y se separó la parte clorofórmica pasándolo por cloruro de potasio y se colocó en un balón de 1L y se eliminó el cloroformo mediante un rotavapor a 60-65°C. Para evitar su oxidación se saturó con nitrógeno, se almacenó en un envase ámbar y se refrigeró.

### **3.3.3. Análisis fisicoquímicos**

El análisis se realizó según la Farmacopea de los Estados Unidos de América (UPS 30) <sup>(36)</sup> con excepción del índice de refracción.



#### **3.3.3.1. Índice de saponificación**

Es la cantidad de hidróxido de potasio (KOH), expresada en mg, necesario para neutralizar los ácidos grasos libres y saponificar los ésteres existentes en 1g de muestra <sup>(37)</sup>.

Se pesó exactamente 2g de aceite y se depositó en un matraz de 250mL esmerilado, luego se añadió 25mL de KOH en solución alcohólica 0.5N y se colocó en baño maría por 30min (adaptado con un refrigerante) hasta obtener la saponificación del aceite (aspecto limpio y transparente), posteriormente se retiró la fuente de calor y se agregó 1mL de fenolftaleína y se valoró el exceso de KOH con HCl 0.5N.

#### **3.3.3.2. Índice de acidez**

Se define como los mg de NaOH o KOH necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres que contiene 1g de aceite o grasa <sup>(38)</sup>.

Se pesó 10g de aceite en un matraz previamente tarado, se añadió 50mL de mezcla de solventes éter-etanol (1:1) y se neutralizó con KOH 0.1N hasta coloración rosada persistente del indicador, se valoró con KOH 0.1N hasta viraje del indicador.

#### **3.3.3.3. Índice de refracción**

Es el cambio de dirección que experimenta una onda al pasar de un medio a otro distinto <sup>(39)</sup>.

Se colocó una gota del aceite al refractómetro y se observó los resultados.

#### **3.3.3.4. Índice de yodo**

Es la medida de la cantidad total de enlaces dobles presentes en grasas y aceites. Se expresa como el número de gramos de yodo que reacciona con los enlaces dobles en 100g de grasas o aceite <sup>(40)</sup>.

Se pesó 0.2g de aceite en un matraz esmerilado previamente tarado, luego se añadió 10mL de cloroformo y se agitó hasta que se disuelva el aceite, posteriormente se agregó 25mL de reactivo de wijs, se agitó y se colocó fuera de la luz por 30min. Después se adicionó 16.5mL de solución de yoduro de potasio al 30% y 100mL de agua destilada. Se valoró con tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 0.1N hasta la decoloración del color amarillo, luego se agregó gotas del engrudo de almidón y continuó la valoración hasta que desaparezca la decoloración azul. Paralelamente también se trabajó con el blanco. Y se registraron los gastos.

### **3.3.3.5. Índice de peróxidos**

Se expresa como los mEq de peróxido presente en 1 kg de aceite o grasa, brinda información con respecto a su grado de oxidación <sup>(41)</sup>.

Se pesó 5g de aceite en un matraz previamente tarado, se añadió 25mL de la mezcla de ácido acético glacial y cloroformo (3:2) se tapa y agita. Luego se añadió 0.5mL de sol. saturada de yoduro de potasio se agitó y se puso en reposo por 5 min fuera de la luz. Luego se añadió 30mL de agua destilada, posteriormente se añadió gotas del engrudo de almidón y se tituló con tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) hasta la desaparición del color azul. Paralelamente también se realizó el blanco. Y se anotaron los gastos.

### **3.3.3.6. Densidad relativa**

No existe una densidad única del aceite, ya que existe varios tipos de aceite, lo común a todos es que es menor que el agua y se encuentran en el rango de 0.840 a 0.960kg/L <sup>(42)</sup>.

Se utilizó el método del picnómetro: se pesó el picnómetro seco, luego se llenó con agua y se anotó el peso y finalmente se pesó el picnómetro con aceite. Se realizó a temperatura ambiente. Y se analizaron los resultados.

### **3.3.3.7. Solubilidad**

Se colocó 200µL de aceite en nueve tubos y se agregó 200µL de metanol, etanol, DMSO, n-butanol, propilenglicol, metanol con DMSO, metanol con etanol, n-butanol con metanol y n-butanol con etanol. Se agitó y se observaron los resultados.

### **3.3.4. Determinación de ácidos grasos**

Se tomó 100mg de aceite y se diluyó con 10mL de pentano y se agregó 100µL de KOH al 11.2% en Metanol. Se agitó por 1min y se centrifugó. El sobrenadante se inyectó al modelo GC-MS. El cromatógrafo de gases es de modelo Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C. Con columna de J&W 122-7063: 4103.44867 DB-wax 240 °C: 60 m x 250 µm x 0.5 µm. Utilizando He como gas portador.

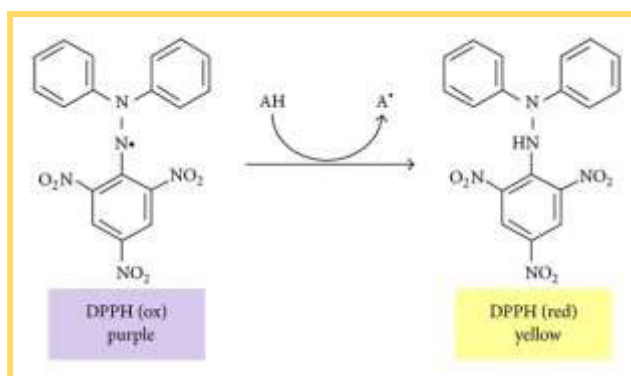
El análisis se realizó en la Unidad de Investigación de Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

### **3.3.5. Determinación de actividad antioxidante**

#### **3.3.5.1. Método de DPPH**

“La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la

molécula completa, por ende, la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres” <sup>(43)</sup>.



**Figura 4** Estructura de la molécula de DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante <sup>(44)</sup>.

El radical libre estable es de coloración violeta, pero cuando reacciona frente un radical libre el radical se decolora a amarillo pálido, su absorbancia se mide generalmente a 517nm.

El porcentaje de inhibición indica la capacidad del antioxidante y se determina con la siguiente fórmula:

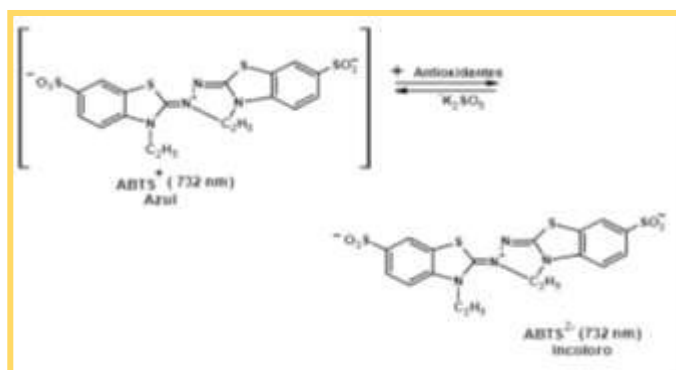
$$(\%) \text{ inhibición} = [(Abs .DPPH - Abs \text{ Aceite}) / Abs. DPPH] \times 100$$

Para la determinación de la actividad antioxidante del aceite se preparó la solución stock disolviendo 20mg de radical DPPH en 50mL de etanol absoluto se almacenó a 4°C por 24h en oscuridad, luego se procedió a diluir con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia entre 0.600-0.700 a 517nm. Se calibró el espectrofotómetro con un blanco. El aceite se diluyó con un sistema de solventes formado por n-butanol con etanol absoluto (1:1) hasta

obtener porcentajes de 3.125%; 1.5625%; 0.78125% y 0.390625%. Luego se tomó 400µL de cada dilución y se le agregó 800µL de sol. DPPH por triplicado, se procedió a incubar por 30min en la oscuridad. Luego se pasó a leer en el espectrofotómetro. Y se determinó el IC<sub>50</sub> que corresponde a la concentración en la que neutraliza el 50% de los radicales libres del DPPH. El mismo procedimiento se realizó con el estándar Trolox®.

### 3.3.5.2. Método de ABTS

“Implica la formación directa del cromóforo ABTS<sup>•+</sup> verde-azul a partir de la reacción entre el ABTS con el persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). Este presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645nm, 734nm y 815nm. La adición del antioxidante al radical preformado lo reduce a ABTS, por lo tanto, el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS<sup>•+</sup> está determinado por la concentración y el tiempo” (43).



**Figura 5** Estructura de la molécula de ABTS<sup>•+</sup> antes y después de reaccionar con un antioxidante (45).

Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utiliza la siguiente fórmula:

$$(\%) \text{ inhibición} = [(Abs. ABTS^{\cdot+} - Abs. Aceite)/Abs. ABTS^{\cdot+}] \times 100$$

Para este método se preparó el  $ABTS^{\cdot+}$  haciendo reaccionar persulfato de potasio (2.45mM) con ABTS (7mM) y se incubó por 16h en oscuridad. Luego se procedió a diluirlo con etanol absoluto hasta obtener una absorbancia de  $0.727 \pm 0.02$  a 734nm. Se calibró el espectrofotómetro con un blanco.

El aceite se diluyó con un sistema de solventes formado por n-butanol con etanol absoluto (1:1) hasta obtener concentraciones de 50%; 25%; 12.5%; 6.25% y 3.125%, luego se procedió a tomar 20 $\mu$ L de cada dilución y se agregó 980 $\mu$ L de sol.  $ABTS^{\cdot+}$ . El análisis se realizó por triplicado. El mismo procedimiento se realizó con el estándar Trolox<sup>®</sup>.

### 3.4. Análisis estadístico

Se evaluó resultados de la actividad antioxidante del aceite en estudio utilizando el análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias. Las diferencias se consideran significativas si  $P < 0.01$ . Se utilizó el análisis de varianza Post Hot Tukey para la comparación de los componentes. El análisis estadístico se realizó en el programa IBM SPSS ver. 24.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Extracción del aceite de la semilla de *Annona muricata*.

#### 4.1.1. Método por Bligh and Dyer

**Tabla 3** Rendimiento de la semilla de *Annona muricata*.

MUESTRA	PESO	SOLVENTE	RENDIMIENTO (%)
Semilla de <i>Annona muricata</i>	100g	Cloroformo, Metanol y agua (2,2,1.8)	13.6

### 4.2. Análisis físicoquímico

#### 4.2.1. Índice de saponificación

**Tabla 4** índice de saponificación

MUESTRA	ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN (mg de KOH/g de muestra)
Aceite de <i>Annona muricata</i>	182,15

#### 4.2.2. Índice de acidez

**Tabla 5** índice de acidez

MUESTRA	ÍNDICE DE ACIDEZ (mg de KOH/g de muestra)
Aceite de <i>Annona muricata</i>	0.854



#### 4.2.3. Índice de refracción

**Tabla 6** índice de refracción

MUESTRA	ÍNDICE DE REFRACCIÓN A 27.9°C
Aceite de <i>Annona muricata</i>	1,414±0,02

#### 4.2.4. Índice de yodo

**Tabla 7** índice de yodo

MUESTRA	ÍNDICE DE YODO (g yodo/100g de muestra)
Aceite de <i>Annona muricata</i>	103,195

#### 4.2.5. Índice de peróxido

**Tabla 8** índice de peróxido

MUESTRA	ÍNDICE DE PERÓXIDO (mEq O/Kg de muestra)
Aceite de <i>Annona muricata</i>	3,56

#### 4.2.6. Densidad relativa

**Tabla 9** densidad relativa

MUESTRA	DENSIDAD (g/mL) a 20°C
Aceite de <i>Annona muricata</i>	0,903326

#### 4.2.7. Solubilidad

**Tabla 10** solubilidad

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Metanol	Insoluble
Etanol	Insoluble
DMSO	Insoluble
Metanol + DMSO (1:1)	Insoluble
Metanol + etanol (1:1)	Poco soluble
Propilénglicol	Insoluble
n-butanol	Poco soluble
n-butanol + metanol (1:1)	Insoluble
n-butanol + etanol (1:1)	Soluble

#### 4.3. Determinación de ácidos grasos del aceite de la semilla de *Annona muricata*.

**Tabla 11** Concentración relativa detallada de los ácidos grasos

ÁCIDOS GRASOS	tR(min)	Concentración relativa (%)
Mirístico (14:0)	15.3	0.06
Palmítico (16:0)	21.2	20.3
Palmitoleico (16:1)	22.3	1.23
Esteárico (18:0)	31.1	4.02
Oleico (18:1)	33.1	41.51
Vaccénico (18:1)	33.3	0.27
Linoleico (18:2)	36.7	31.24
Linolénico (18:3)	42.1	0.9
Eicosanoico (20:0)	48.6	0.47

#### Concentración relativa por tipo de ácidos grasos

ÁCIDOS GRASOS	CONCENTRACIÓN RELATIVA (%)
Saturados	24.9
Monoinsaturados	43
Poliinsaturados	32.1

#### 4.4. Determinación de la actividad antioxidante del aceite de *Annona muricata* (guanábana)

##### 4.4.1. Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

**Tabla 13** IC<sub>50</sub> DPPH del aceite de la semilla de *Annona muricata* y Trolox®

Sustancia	Concentración (mg/mL)	Absorbancia	%Inhibición	IC 50 (µg/mL)
Blanco	0.000	0.413	0.000	6938.000
Aceite de guanábana	1.380	0.363	12.199	
	2.761	0.320	22.471	
	5.522	0.234	43.311	
	11.043	0.098	76.287	
Estándar (Trolox®)	0.000	0.440	0.000	2.091
	0.333	0.410	6.994	
	0.667	0.383	12.973	
	2.667	0.156	64.623	

#### 4.4.2. Método de ABTS [Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico]

**Tabla 14** IC<sub>50</sub> ABTS del aceite de la semilla de *Annona muricata* y Trolox®

Sustancia	Concentración (mg/mL)	Absorbancia	%Inhibición	IC 50 (µg/mL)
Blanco	0	0.642	0	8385.000
Aceite de guanábana	1.325	0.569	11.398	
	2.650	0.516	19.615	
	5.301	0.417	35.093	
	10.602	0.252	60.703	2.779
Estándar (Trolox®)	0.000	0.696	0.000	
	0.800	0.576	17.171	
	1.600	0.480	30.952	
	3.000	0.318	52.669	

## V. DISCUSIÓN

La extracción de aceites vegetales puede realizarse en dos métodos: prensado y extracción por solventes. La utilización de solventes hace que la extracción sea más rápida y tenga un mayor rendimiento que el prensado en frío, pero tiene sus desventajas como tener alto costo y ocasionar problemas en la salud como intoxicación por inhalación de solventes muy volátiles, y en el medio ambiente, ya que se mantienen suspendidas en el aire. <sup>(46)</sup> Existen métodos de última generación como la extracción por CO<sub>2</sub> supercríticos que tiene buenos rendimientos, además de extraer el aceite con mayor pureza. Los factores que influyen en el momento de una extracción son el tiempo de trabajo; el tamaño de partícula; así como la concentración, temperatura y tipo de solvente. Otros factores tenemos el tiempo de cosecha, zona geográfica de cultivo, tipo de suelo, edad de la planta, etc. Para obtener aceite de buena calidad y poder caracterizarlo se recomienda utilizar el método por expresión en frío. Para aumentar el rendimiento de extracción, las semillas se deben triturar y calentar (a baja temperatura) por un corto tiempo <sup>(47)</sup>.

Para la obtención del aceite se empleó el método por solventes Bligh & Dyer obteniendo un rendimiento de 13,6%.

Un estudio realizado en Guatemala (Alvarado 2015) <sup>(48)</sup> obtuvo un rendimiento del 3,73% de obtención de aceite de la almendra de *Annona muricata* por el procedimiento de prensado en frío, mientras que otro estudio en Huancayo (Nonalaya y Marcañaupá 2017) <sup>(49)</sup> obtuvo un rendimiento del 11,8% con prensado en frío y 26,91% utilizando el método de Soxhlet. Otro estudio realizado en Colombia (Dorado y col. 2016) <sup>(50)</sup> utilizó el CO<sub>2</sub> supercríticos

obteniendo un rendimiento de 12,9%. Se puede observar que en la zona geográfica de Junín existe una mayor cantidad de aceites en las semillas *Annona muricata* que en los estudios realizados por Alvarado (2015) y Dorado y col (2017), ya que tuvo mayor porcentaje de rendimiento. Incluso el rendimiento por prensado en frío que fue realizado por Nonalaya y Marcañaupa (2017), tuvo un rendimiento casi igual que el método por solventes de Bligh & Dyer siendo por teoría el de mayor rendimiento. Aunque el rendimiento del CO<sub>2</sub> supercríticos sea menor, sigue siendo de mayor calidad, ya que utiliza tecnología limpia.

Las pruebas fisicoquímicas son muy importantes, ya que determinan el comportamiento y la utilidad del aceite en estudio. Como se dijo líneas arriba estas propiedades fisicoquímicas puede variar por el tipo de suelo, tiempo de cosecha, edad de la planta, etc.

El índice de saponificación del aceite de guanábana es de 182,15mg KOH/g aceite; lo que indica la cantidad de KOH que se necesita para saponificar 1g de aceite (mg KOH/g aceite); el estudio realizado por Alvarado (2015) obtuvo como resultado 178,12 mg KOH/g aceite y otro estudio elaborado por Nonalaya y Marcañaupa (2017) tuvo como índice: 204,297 mg KOH/g aceite; por lo tanto, se observa que el aceite de investigado por Nonalaya y Marcañaupa (2017) presenta mayor cantidad de ácidos grasos de bajo peso molecular que el aceite de la presente tesis.

El índice de acidez representa el grado de resistencia que tiene el aceite al hidrólisis de los triglicéridos en ácidos grasos y glicerol. El aceite en estudio tuvo como índice de acidez 0,854 (mg de KOH/g aceite). Nonalaya y

Marcañaupa (2017) obtuvieron como resultado 0,362 (mg de KOH/g aceite) mientras que otro estudio realizado por Rengifo Gratelli (2014) <sup>(51)</sup> tuvo 2,123(mg de KOH/g aceite) en la caracterización del aceite de la semilla de *Persea americana*. Se observa que el aceite de mayor resistencia es el estudiado por Nonalaya y Marcañaupa (2017), ya que tuvo un menor valor que el aceite del presente estudio siendo del mismo departamento, Junín, pero de diferente zona de recolección.

El índice de refracción está relacionado con la longitud de la cola hidrocarbonada y con la cantidad de enlaces dobles presentes en los ácidos grasos. En el presente estudio se obtuvo como índice de refracción 1,414; mientras que en el estudio realizado por Alvarado (2015) tuvo 1,479 y otro estudio realizado por Rengifo Gratelli (2014) tuvo como resultado 1,465. Por lo que se observa que en el estudio elaborado por Alvarado (2015) presenta mayor cantidad de enlaces dobles y cadena hidrocarbonada que el presente estudio, esto se evidencia en la tabla de tipos y concentración de ácidos grasos del presente estudio.

El índice de yodo nos expresa el grado de insaturaciones que presenta el aceite. El estudio realizado por Alvarado (2015) y por Rengifo Gratelli (2014) obtuvieron como índice de yodo: 106,913 y 70,623 respectivamente. El índice de yodo del presente estudio obtuvo como resultado 103,195; con esto se reafirma lo escrito líneas arriba, el estudio de Alvarado (2015) tiene mayor grado de insaturación que el aceite estudiada, lo que se evidencia en los tipos y proporción de ácidos grasos en los aceites.

El índice de peróxido indica el estado de mantenimiento del aceite, ya que la oxidación elimina moléculas lipídicas como las vitaminas liposolubles y ácidos grasos esenciales lo que provoca cambios organolépticos.

En el estudio se obtuvo como índice de peróxido el valor de 3,56 y en otros estudios realizados por Alvarado (2015) y Rengifo Gratelli (2014); 3,07 y 1,40 respectivamente. Lo que nos indica que el mejor grado de conservación lo tiene el estudio elaborado por Rengifo Gratelli (2014), por presentar el menor índice que los 2. en comparación. Estudios en la Habana-Cuba (Tabio D. y Col. 2017) <sup>(47)</sup>. determinaron el máximo índice de peróxido de aceite con fines alimenticios es de 5 mEq O/kg de aceite; por lo tanto, el aceite en estudio tiene un considerable índice de peróxido, ya que se encuentra dentro del límite.

Densidad relativa de los aceites vegetales y minerales se encuentra en el rango de 0,840 a 0,960. Esta propiedad fisicoquímica aumenta cuando aumenta el peso molecular de los ácidos grasos.

En el estudio realizado se obtuvo como densidad relativa a 20 °C el valor de 0,903 (g/mL), mientras que en el estudio realizado por Alvarado (2015) obtuvo como resultado 0,924 (g/mL) a 20°C y otro estudio en Huancayo (Nonalaya y Marcañaupa 2017) obtuvo, 0,925 a 20°C; por lo tanto, el que presenta mayor cantidad de ácidos grasos es el estudio realizado por Alvarado (2015) por presentar una mayor densidad, lo que se evidencia con el índice de yodo.

Con respecto a la solubilidad del aceite estudiada se obtuvo como resultado ser soluble en una mezcla de solventes en proporción 1:1 que es n-butanol con etanol absoluto.



En la evaluación de los ácidos grasos de la presente investigación se obtuvo lo siguiente: saturados 24,9%, monoinsaturados 43% y poliinsaturados 32,1%; siendo de mayor concentración el palmítico (ácido graso saturado) con un 20,3% y en la parte de los insaturados tenemos al ácido graso oleico con 41,515% y linoleico con 31,24%.

En contraste con otros estudios como el que realizaron Nonalaya y Marcañaua (2017) (extracción por prensado en frío) fueron: saturados 25,4%; monoinsaturados 41,06% y poliinsaturados 33,54%. Siendo el de mayor abundancia el palmítico con 19,58% y por parte de los insaturados tenemos al ácido graso oleico con 39,24% y linoleico con 32,21%. Observamos que los resultados son casi semejantes, siendo el método de obtención de dichos aceites diferentes, ya que el aceite en estudio se extrajo por el método de solventes Bligh & Dyer y el Nonalaya y Marcañaua (2017) es de prensado en frío.

Otra investigación realizada por Rengifo Gratelli (2014) tuvo los siguientes resultados: Ácidos grasos saturados (20,963%); monoinsaturados (18,099%) y poliinsaturados (60,937%). Siendo el ácido palmítico como único ácido graso saturado y por parte de los monoinsaturados tenemos al ácido oleico con un 18,099%, y poliinsaturados al ácido linoleico con 48,766% y ácido linolénico con 12,171%. Se puede observar que dicho estudio presenta menor cantidad de ácidos grasos saturados, por ende, el aceite de la semilla de *Annona muricata* resiste más al enranciamiento; por otro lado, el estudio de Rengifo Gratelli (2014) tiene mayor concentración de ácidos grasos insaturados que el aceite de la presente tesis; por lo tanto, tiene más propiedades nutritivas.

Pariona Mendoza (2008) investigó los ácidos grasos del aceite de sachá inchi y obtuvo los siguientes resultados: Saturados con un 2,94%; monoinsaturados con 8,73% y poliinsaturados con un 88,05%. Se puede analizar que presenta menor cantidad de ácidos grasos saturados que el aceite de la presente tesis, pero contiene mayor cantidad de ácidos grasos insaturados en especial los poliinsaturados; por ende, el aceite de sachá inchi resiste menos al enranciamiento, pero contiene mayor cantidad de nutrientes esenciales, ya que el organismo no lo sintetiza, que el aceite de *Annona muricata*.

La actividad antioxidante es la medida de la capacidad que tiene los antioxidantes de repeler la formación excesiva de radicales libres formadas por proceso fisiológicos normales como los que son producidos por factores endógenos y exógenos. <sup>(52)</sup>

La actividad antioxidante del aceite estudiada fue evaluada mediante dos métodos: El primero es la captación del radical DPPH, se obtuvo como resultado el IC<sub>50</sub> de 6938 µg/mL con 301.387 µg TE/g de aceite y el segundo método es la captación del radical ABTS<sup>•+</sup> se obtuvo como resultado el IC<sub>50</sub> de 8385 µg/mL con 331.430 µg TE/g de aceite. Lo que evidencia que la actividad antioxidante del aceite en estudio no es significativa en comparación al estándar Trolox<sup>®</sup>.

Un estudio realizado en Venezuela por Vit P. y col (2014) de la actividad antioxidante de los extractos de la pulpa, hoja y semilla de *Annona muricata* (guanábana) mediante el método de ABTS <sup>(6)</sup> tuvo como resultado 86,6 µmoles equivalentes de Trolox<sup>®</sup>/100g de aceite en el extracto metanólico de la semilla de guanábana. En contraste con los resultados del aceite en estudio se

encontró que los extractos tienen mayor actividad antioxidante que el aceite, debido a que dentro de su composición presenta moléculas polares como flavonoide, polifenoles, etc. que presentan buena actividad antioxidante.

Un estudio realizado en Perú realizada por Cuevas M. y Lozano N. (2017) en donde analizaron la actividad antioxidante del aceite de tres tipos de quinua (blanca, roja y negra) tuvo como resultado el IC50 en DPPH de 3547,917 µg/mL en la quinua blanca; 2575, 510 µg/mL en la quinua roja y en la quinua negra obtuvo 3315, 859 µg/mL; por lo tanto, presenta mayor actividad antioxidante que el aceite estudiado, ya que este presentó un IC50 de DPPH igual a 6938 µg/mL lo que demuestra tener mayor cantidad de moléculas que tiene propiedad antioxidante.

Otro estudio realizado al aceite de la palta (*Persea americana*) por Rengifo Gratelli (2014) determinó la actividad antioxidante por el método de DPPH y ABTS obteniendo como resultado: 9,676 µmol TE/kg de aceite por el método de DPPH y por el método de ABTS obtuvo 5,313 µmol TE/kg de aceite; por ende, presenta una mayor actividad antioxidante que el aceite de la semilla de *Annona muricata*, ya que tiene 1204 µmol TE/kg de aceite de actividad antioxidante por el método de DPPH y 1324,2 µmol TE/kg de aceite por el método de ABTS.

## VI. CONCLUSIONES

1. El rendimiento de extracción del aceite investigada, por el método de sistemas de solventes de Bligh & Dyer, fue del 13.3%. lo que demuestra que este método presenta mayor rendimiento que el prensando en frío.
2. En la evaluación de los ácidos grasos se obtuvo como resultado: ácidos grasos saturados 24,9%; monoinsaturados 43,0% y poliinsaturados 32,1%; siendo los ácidos grasos oleico (41,51%) y linoleico (31,24%) de mayor concentración. Demostrando ser un aceite de buena calidad en comparación con los aceites extraídos por presando en frío, ya que presentan diferencias mínimas en concentraciones de ácidos grasos.
3. Con respecto a la determinación de la actividad antioxidante *in vitro* del aceite, en estudio, por el método de DPPH se obtuvo un IC50 de 6938 µg/mL y 301,387 µg TE/g de aceite; y con el método de ABTS el resultado fue de 8385 µg/mL y 331,430 µg TE/g de aceite. Lo que demuestra tener una actividad antioxidante no significativa con respecto al estándar Trolox®.

## **VII. RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda recolectar la *Annona muricata* (guanábana) en buen estado de madurez, ya que el fruto en ese momento presenta mayor riqueza de nutrientes y con ello se puede obtener mejores resultados.
2. Considerar la utilización de técnicas enzimáticas antes de la extracción del aceite de la semilla de guanábana, ya que puede influenciar en la liberación de moléculas que presenten actividad antioxidante.
3. Estimar la utilización de la biotecnología que podrían mejorar las características del aceite extraído y así tener mayor utilidad.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Conoce el mercado de la medicina natural en el Perú. El Comercio.PE [publicación periódica en línea] 2017. Julio 17. [citado: 2019. Marzo 05]; 1(1).  
Disponible en:  
  
<https://elcomercio.pe/suplementos/comercial/medicina-salud/conoce-mercado-medicina-natural-peru-1002885>
2. Méndez J, Gutiérrez R, col. USOS TERAPÉUTICOS DE LA GUANABANA (*Annona muricata*). En: XII Participación de la mujer en la ciencia. México. Lomas del Bosque. 2016.
3. Boletín de la Guanábana. Boletín de la Comisión Nacional contra la Biopiratería. INDECOPI. 2014. Diciembre. [citado: 2019 Marzo 07].  
Disponible en:  
  
[https://www.indecopi.gob.pe/documents/20182/143803/boletin\\_intro\\_guanabana.pdf](https://www.indecopi.gob.pe/documents/20182/143803/boletin_intro_guanabana.pdf)
4. Restrepo J, Vinasco L, Evaluación de la Fracción Lipídica de la Semilla de Guanábana (*Annona muricata*) y Chirimoya (*Annona cherimolia*). *Revista de Ciencias* 2010 (14), 117-124.
5. Cremas humectantes a partir de las semillas de guanábana *Agencia de noticias UN* [publicación periódica en línea] 12 de diciembre de 2011 [citado: 2019 marzo 07]. Disponible en:  
  
<http://agenciadenoticias.unal.edu.co>.

6. Vit P, Santiago E, Pérez E, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PULPA, HOJA Y SEMILLA DE GUANABANA *Annona muricata* L. *Interciencia* 2014, 39 (5), 350-353.
7. Salgar F, Aceite de Guanábana, con grandes cualidades. *Agencia Universitaria de periodismo científico* (2003).  
  
Disponible en:  
  
<https://aupec.univalle.edu.co/informes/2003/diciembre/guanabana.html>
8. Jaha A, Rajashri R, Ashok K, Sanaa K, Fatty Acids Analysis, Antioxidant and Biological Activity of Fixed Oil of *Annona muricata* L. Seeds. *Hindawi Publishing Corporation* (2016), 6.
9. Cultivo de guanábana. En Colombia. Cultivo de frutas tropicales. 2014.[citado: 2019. Marzo 12. Disponible en:  
  
<https://encolombia.com/economia/agroindustria/cultivo/cultivodeguanabana/>
10. AMAZON GREEN. Graviola guanábana. Perú. [citado: 2019. Mayo 05].  
  
Disponible en:  
  
<https://graviola-guanabana.jimdo.com/productos/graviola-amaz%C3%B3nica/informaci%C3%B3n-y-caracter%C3%ADstica-bot%C3%A1nica/>
11. GUANÁBANA. Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior. Perú. [citado: 2019. Marzo 12]. Disponible en:  
  
<http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/guanabana1.pdf>

12. *Annona muricata*. Species Plantarum. México. 1. p. 536-537. Disponible en:  
[http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/5-annon2m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/5-annon2m.pdf)
13. Casillas R, Propiedades nutritivas y medicinales de la guanábana o *Annona muricata* L. Tlahui Medic N°29, 1. México. 2010. Disponible en:  
<http://www.tlahui.com/medic/medic29/guanabana.htm>
14. Segundo L, Guillermo G, Luis Ch, *Annona muricata* L. “guanábana”, una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. Rev. del Museo de Hist. Nat. y Cult. ArnaldoA. [Internet]. 2018 [citado 2019 Mayo 06] Vol. 25(1) 127-140. Disponible en:  
<http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/850>
15. Karp G, Las bases químicas de la vida. Biología Celular y Molecular. 4ta ed. México. McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. 2006. P. 52-54.
16. Carbajal A, Grasas y lípidos. Universidad Complutense de Madrid. España. 2013. [citado: 2019 Marzo 18]. Disponible en:  
<https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-cap-6-grasas.pdf>
17. Valenzuela A, Nieto K, Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal. Rev. Chil. Pediatr 74 (2); p. 149-157. 2003.
18. Ballesteros M. Valenzuela L, Artalejo E, Robles A, Ácido grasos *trans*: un análisis del efecto de su consumo en la salud humana, regulación del contenido en alimentos y alternativas para disminuirlo. Nutr. Hosp. Vol.27 N°1. 2012.



19. Martínez A, EVALUACIÓN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS ACEITES Y DE SU FRACCIÓN INSAPONIFICABLE DE LOS FRUTOS DE: *Mauritia flexuosa* (Morete), *Bactris gasipaes* (Chonta), *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) y *Oneocarpus batahua* (Ungurahua) UTILIZANDO LOS MÉTODOS DPPH Y EL TEST DEL B-CAROTENO. [Tesis para optar el título de Ingeniero de Biotecnología de los recursos naturales]. Colombia. Universidad Politécnica Salesiana sede Quito. 2011.
20. Terrado S, Barthelemy A, Valls M, y Armand O, RADICALES LIBRES Y DEFENSAS ANTIOXIDANTES. Facultad de ciencias médicas. Cuba. 2003. [citado: 2019. Marzo 20].
21. Venéreo J, DAÑO OXIDATIVO, RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES. Rev. Cubana Med Milit. 31(2): 126-33. 2002.
22. Rojas M, Martínez T, Peroxidación de lípidos y sus efectos sobre la salud. Lípidos y Salud. [internet]. 2010 [consultado 01 Jul 2019]; 10 (3).  
  
Disponibles en:  
  
[http://www.palmadeaceite.org/bigdata/lapalma/pdf/lipidos\\_y\\_salud\\_3.pdf](http://www.palmadeaceite.org/bigdata/lapalma/pdf/lipidos_y_salud_3.pdf)
23. Gonzales M. Betancourt M, Ortiz R, Daño Oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica. [internet]. 2000 [consultado 01 Jul 2019]; 25 (1). Disponible en:  
  
<http://www.redalyc.org/pdf/576/57611797001.pdf>
24. Zorrilla A, Eirez M, y Moreisby I, Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. Rev Cubana Invest Biomed. Vol.23. N°1. Cuba. 2004. [citado: 2019 Marzo 21]. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002004000100008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002004000100008)

25. Mayor R, Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. Rev. Inst. Med. Trop. 2010. [citado: 2019 Jul 1]; 5 (2): 23-29. Disponible en:  
<http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>
26. Eugenia M, Consumo de antioxidantes naturales en adultos mayores de entre 65 y 75 años con dislipidemia. [Tesis Licenciatura en Nutrición]. Argentina: Universidad Abierta Interamericana. 2013.
27. ANTIOXIDANTES EN ALIMENTOS: PRINCIPALES FUENTES Y SUS CONTENIDOS. PortalAntioxidantes.com. [citado: 2019. Marzo 21]. Disponible en:  
<http://www.portalantioxidantes.com/antioxidantes-en-alimentos/>.
28. Porras A, y López A, Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de los Alimentos. México.3 (1). p. 121-134. 2009.
29. Castillo J, Antioxidantes naturales. Tipos y distribución. [diapositiva]. Murcia. 2012. 70 diapositivas. Disponible en:  
<https://www.um.es/lafem/Actividades/OtrasActividades/CursoAntioxidantes/MaterialAuxiliar/2012-01-24-AntioxidantesEnNaturaleza-TiposDistribucion.pdf>
30. Cuevas M, Lozano R, Actividad antioxidante y composición de ácidos grasos, tocoferoles y tocotrienoles en tres variedades de *Chenopodium quinoa* Willdenow y elaboración de una crema dermocosmética antienvjecimiento.

[Tesis para Título profesional]. Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017.

31. Victoria M, ANTIOXIDANTES NATURALES. [Tesis Licenciatura en Nutricio Medicina y ciencias de la Salud]. Argentina. Universidad Abierta Interamericana. 2010.
32. Elejalde J, Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. ANALES DE MEDICINA INTERNA. 18 (6): 326-335. 2001. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf>
33. Determinación de lípidos en alimentos utilizando el método de Bligh-Dyer. [Base de datos en línea]. [citado: 2019. Marzo 21]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/149824801/LAB-11-Practica-N10-Metodo-de-Bligh-dyer>
34. Bligh F, Dye J, A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. 1959. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37, 911-917.
35. Soto L, col, EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS DE *Tetraselmis suecica*: PROCESO ASISTIDO POR ULTRASONIDO Y SOLVENTES. Rev. Mex. De Ing. Química. 2014. Vol. 13(3) 713-737.
36. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP NF 25. 2007.W.D.C.(1) 172-174.
37. Gorriti A, col, Manual de laboratorio de Farmacognosia II de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017

38. Determinación del índice de acidez en aceites y grasas comestibles. [Base de datos en línea]. [citado: 2019. Marzo 21]. Disponible en:  
  
<https://es.scribd.com/doc/97574878/Determinacion-del-indice-de-acidez-en-aceites-y-grasas-comestibles>.
39. Beatriz G, Aceites y grasas comestibles. [citada: 2019. Marzo 22].  
  
Disponible en:  
  
[http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma\\_Medina/Grasasyaceites/Documento\\_Grasas\\_y\\_aceites.pdf](http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma_Medina/Grasasyaceites/Documento_Grasas_y_aceites.pdf)
40. Valoración termométrica aplicada: determinación del índice de yodo (IV) en grasa y aceites. Metrohm. [citada: 2019. Marzo 22]. Disponible en:  
  
<https://www.metrohm.com/es/compania/noticias/news-indice-de-yodo-en-grasas-y-aceites/>
41. Determinación de Índice de Peróxidos en aceites y grasas. Facultad de Oceanografía, Pesquería y ciencia de los Alimentos. [Base de datos en línea]. [citada: 2019. Marzo 22]. Disponible en:  
  
<https://es.scribd.com/doc/59207501/indice-de-Peroxido-Grasas>
42. Densidad del aceite. Experimentos Científicos. [citado: 2019. Marzo 22].  
  
Disponible en:  
  
<https://www.experimentoscientificos.es/densidad/densidad-del-aceite/>

43. Tovar J, Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. [Tesis para Químico Industrial]. Colombia. Universidad Tecnológica de Pereira. 2013.
44. López J, Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico. Universidade da Coruña. 2017. [citado: 2019. Mayo 31].
45. Sánchez A, Características antioxidantes de propóleos de diferentes orígenes geográficos. [Para obtener el grado en ciencia y tecnología de alimentos] Universitat Politècnica de València. España. 2018.
46. Bernardini E, Tecnología de aceites y grasas. Editorial Alhambra, S.A. España.
47. Tabio D, Díaz Y, Rondón M, Fernández E, Piloto R. (2017) Extracción de aceites de origen vegetal. Universidad Tecnológica de la Habana “José Antonio Echevarría” 2017.
48. Alvarado A, Evaluación y caracterización de aceites fijos de las semillas de dos especies de la familia Annonaceae: *Annona muricata* (guanábana) y *Annona purpurea* (chincuya) para su aplicación industrial. [Tesis para optar el título profesional]. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 2015.
49. Nonalaya K, Marcañaupa J, EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE CHIRIMOLLA (*Annona cherimola*) Y GUANÁBANA (*Annona muricata*). [Tesis para optar el título profesional]. Perú. Universidad Nacional del Centro del Perú. 2017.

50. Daniela J, Andrés B, Hugo M, Extracción con CO<sub>2</sub> Supercríticos de Aceite de Semilla de Guanábana (*Annona muricata*): Cinética, Perfil de Ácidos Grasos y Esteroles. Información Tecnológica. Colombia. 2016. Vol. 27(5) 37-48.
51. Rengifo P, Caracterización del aceite de palta *Persea Americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. [Tesis para optar el título profesional]. Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014.

## IX. ANEXOS

### Anexo 1: Constancia de identificación botánica del fruto de la *Annona muricata* (guanábana).

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
Vicerrectorado de Investigación y Posgrado  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

**CONSTANCIA N° 085-USM-2019**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hojas), recibida de **José Carlos Torres Castillo**; estudiante de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como: ***Annona muricata* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**  
**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**  
**SUB CLASE: MAGNOLIIDAE**  
**ORDEN: MAGNOLIALES**  
**FAMILIA: ANNONACEAE**  
**GÉNERO: *Annona***  
**ESPECIE: *Annona muricata* L.**

Nombre vulgar: Guanábana\*  
Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 03 de abril de 2019

   
**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

**Figura 6:** Certificado de clasificación taxonómica de la *Annona muricata* (guanábana)

**Anexo 2: Preparación de la muestra para la extracción del aceite.**



**Figura 7:** Semilla de *Annona muricata*.  
(guanábana)



**Figura 8:** Semilla molida

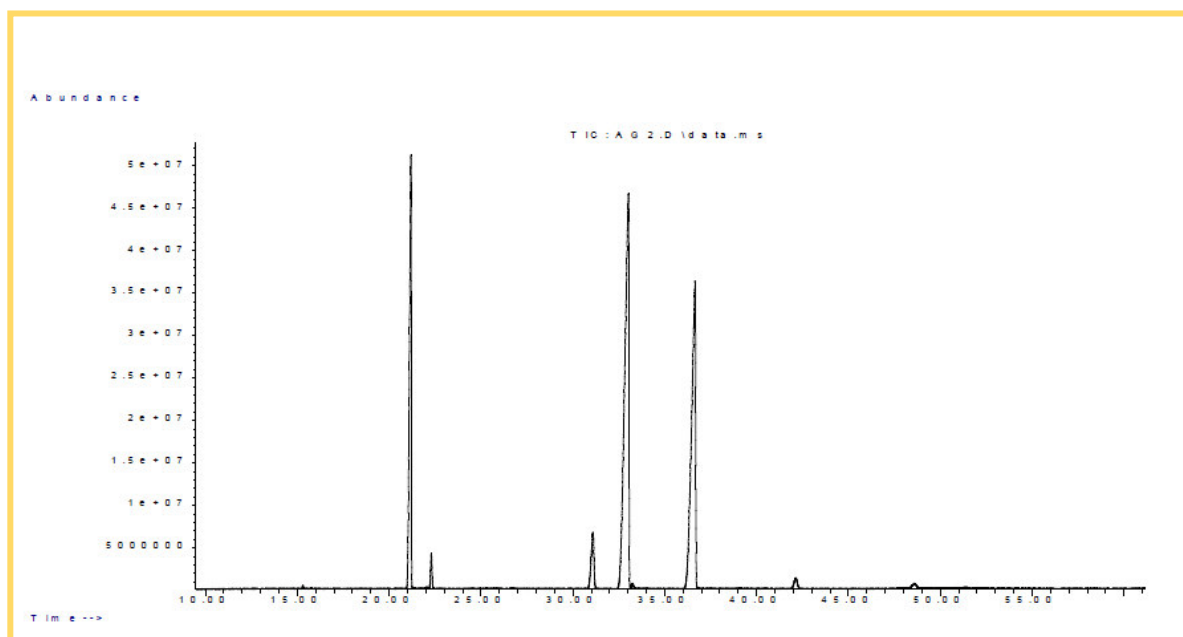
**Anexo 2: Aceite de la semilla de *Annona muricata* (guanábana)**



**Figura 9:** Aceite de la semilla

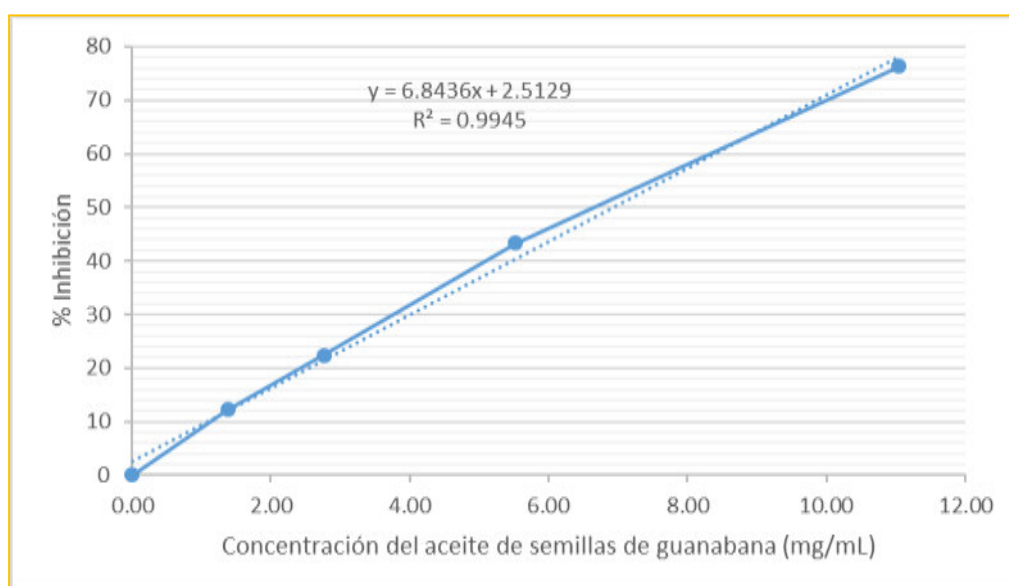


### Anexo 3: Cromatogramas del análisis de ácidos grasos.



**Figura 10:** Cromatograma de ácidos grasos del aceite de *Annona muricata* (guanábana)

### Anexo 4: Curva de la actividad antioxidante por el método DPPH.



**Figura 11:** Curva de actividad antioxidante por DPPH del aceite.

**Anexo 5: Análisis ANOVA y Post Hoc Tukey del DPPH del aceite de la semilla de *Annona muricata*.**

ANOVA					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,184	4	,046	851,083	,000
Dentro de grupos	,001	10	,000		
Total	,184	14			

**Figura 12: ANOVA del DPPH del aceite en estudio.**

Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) Concentracion	(J) Concentracion	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0%	0.1302%	.0504000 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.024369	.076431
	0.2604%	.0928333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.066803	.118864
	0.5208%	.1789333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.152903	.204964
	1.0417%	.3151667 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.289136	.341197
0.1302%	0%	-.0504000 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.076431	-.024369
	0.2604%	.0424333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.016403	.068464
	0.5208%	.1285333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.102503	.154564
	1.0417%	.2647667 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.238736	.290797
0.2604%	0%	-.0928333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.118864	-.066803
	0.1302%	-.0424333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.068464	-.016403
	0.5208%	.0861000 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.060069	.112131
	1.0417%	.2223333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.196303	.248364
0.5208%	0%	-.1789333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.204964	-.152903
	0.1302%	-.1285333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.154564	-.102503
	0.2604%	-.0861000 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.112131	-.060069
	1.0417%	.1362333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	.110203	.162264
1.0417%	0%	-.3151667 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.341197	-.289136
	0.1302%	-.2647667 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.290797	-.238736
	0.2604%	-.2223333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.248364	-.196303
	0.5208%	-.1362333 <sup>*</sup>	.0059994	.000	-.162264	-.110203

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.01.

**Figura 13: Post Hoc Tukey del DPPH del aceite en estudio**

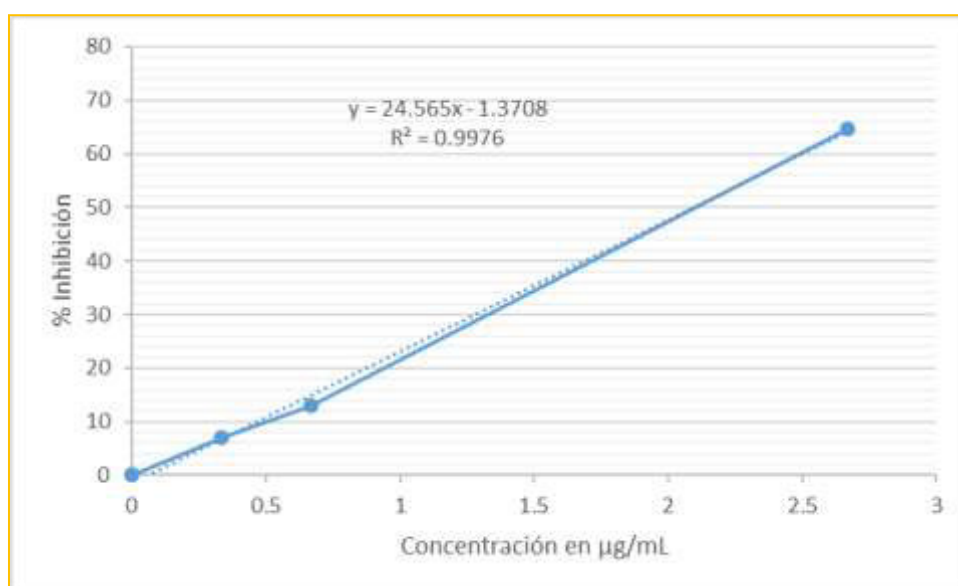
Absorbancias						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Concentracion	N	Subconjunto para alfa = 0.01				
		1	2	3	4	5
1.0417%	3	.097967				
0.5208%	3		.234200			
0.2604%	3			.320300		
0.1302%	3				.362733	
0%	3					.413133
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

**Figura 14: Subconjuntos homogéneos del DPPH del aceite en estudio**

#### **Anexo 6: Curva de la actividad antioxidante del estándar Trolox®.**



**Figura 15: Curva de actividad antioxidante por DPPH del Trolox®.**

## Anexo 7: Análisis ANOVA y Post Hoc Tukey del DPPH del estándar Trolox®

ANOVA					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,196	3	,065	1261,508	,000
Dentro de grupos	,000	8	,000		
Total	,196	11			

**Figura 16: ANOVA del DPPH de Trolox®**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) Concentracion	(J) Concentracion	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/mL	0.3333 ug/mL	.0308000*	.0058703	,003	.005048	.056552
	0.6667 ug/mL	.2531000*	.0058703	,000	.227348	.278852
	2.6667 ug/mL	.2846000*	.0058703	,000	.258848	.310352
0.3333 ug/mL	0 ug/mL	-.0308000*	.0058703	,003	-.056552	-.005048
	0.6667 ug/mL	.2223000*	.0058703	,000	.196548	.248052
	2.6667 ug/mL	.2538000*	.0058703	,000	.228048	.279552
0.6667 ug/mL	0 ug/mL	-.2531000*	.0058703	,000	-.278852	-.227348
	0.3333 ug/mL	-.2223000*	.0058703	,000	-.248052	-.196548
	2.6667 ug/mL	.0315000*	.0058703	,003	.005748	.057252
2.6667 ug/mL	0 ug/mL	-.2846000*	.0058703	,000	-.310352	-.258848
	0.3333 ug/mL	-.2538000*	.0058703	,000	-.279552	-.228048
	0.6667 ug/mL	-.0315000*	.0058703	,003	-.057252	-.005748

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.01.

**Figura 17: Post Hot de Tukey del DPPH de Trolox®.**

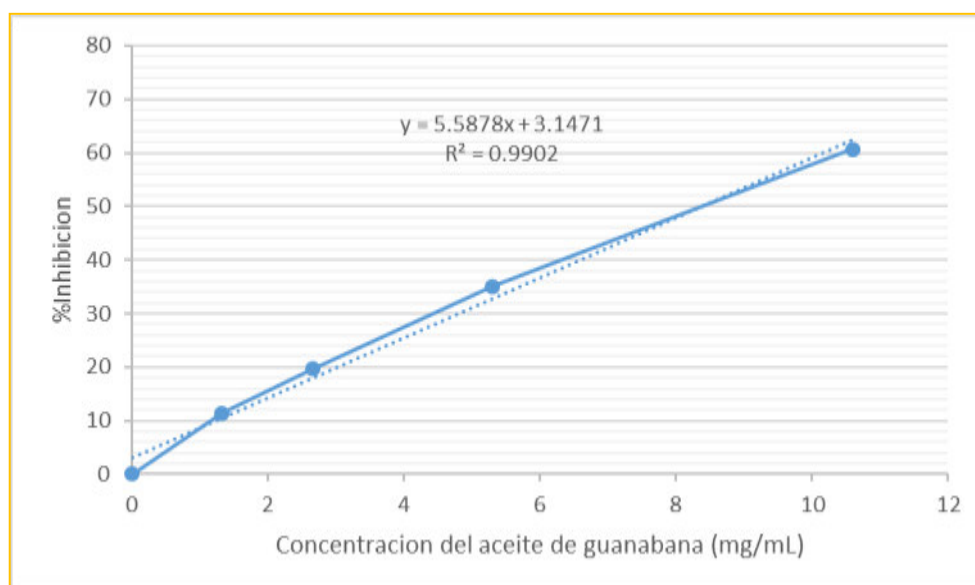
Absorbancias					
HSD Tukey <sup>a</sup>					
		Subconjunto para alfa = 0.01			
Concentracion	N	1	2	3	4
2.6667 ug/mL	3	.155800			
0.6667 ug/mL	3		.187300		
0.3333 ug/mL	3			.409600	
0 ug/mL	3				.440400
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

**Figura 18: Subconjuntos homogéneos del DPPH de Trolox®.**

#### **Anexo 8: Curva de la actividad antioxidante por el método ABTS.**



**Figura 19: Curva de la actividad antioxidante por ABTS del aceite.**

**Anexo 9: Análisis de ANOVA y Post Hoc Tukey del ABTS del aceite de la semilla de *Annona muricata*.**

ANOVA					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,274	4	,069	758,313	,000
Dentro de grupos	,001	10	,000		
Total	,275	14			

**Figura 20:** ANOVA del ABTS del aceite en estudio.

Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) Concentracion	(J) Concentracion	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 %	0.3125%	.0732000*	.0077608	,000	.039527	.106873
	0.25%	.1259667*	.0077608	,000	.092293	.159640
	0.5%	.2253667*	.0077608	,000	.191693	.259040
	1%	.3898333*	.0077608	,000	.356160	.423507
0.3125%	0 %	-.0732000*	.0077608	,000	-.106873	-.039527
	0.25%	.0527667*	.0077608	,000	.019093	.086440
	0.5%	.1521667*	.0077608	,000	.118493	.185840
	1%	.3166333*	.0077608	,000	.282960	.350307
0.25%	0 %	-.1259667*	.0077608	,000	-.159640	-.092293
	0.3125%	-.0527667*	.0077608	,000	-.086440	-.019093
	0.5%	.0994000*	.0077608	,000	.065727	.133073
	1%	.2638667*	.0077608	,000	.230193	.297540
0.5%	0 %	-.2253667*	.0077608	,000	-.259040	-.191693
	0.3125%	-.1521667*	.0077608	,000	-.185840	-.118493
	0.25%	-.0994000*	.0077608	,000	-.133073	-.065727
	1%	.1644667*	.0077608	,000	.130793	.198140
1%	0 %	-.3898333*	.0077608	,000	-.423507	-.356160
	0.3125%	-.3166333*	.0077608	,000	-.350307	-.282960
	0.25%	-.2638667*	.0077608	,000	-.297540	-.230193
	0.5%	-.1644667*	.0077608	,000	-.198140	-.130793

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.01.

**Figura 21:** Post Hoc Tukey del ABTS del aceite en estudio

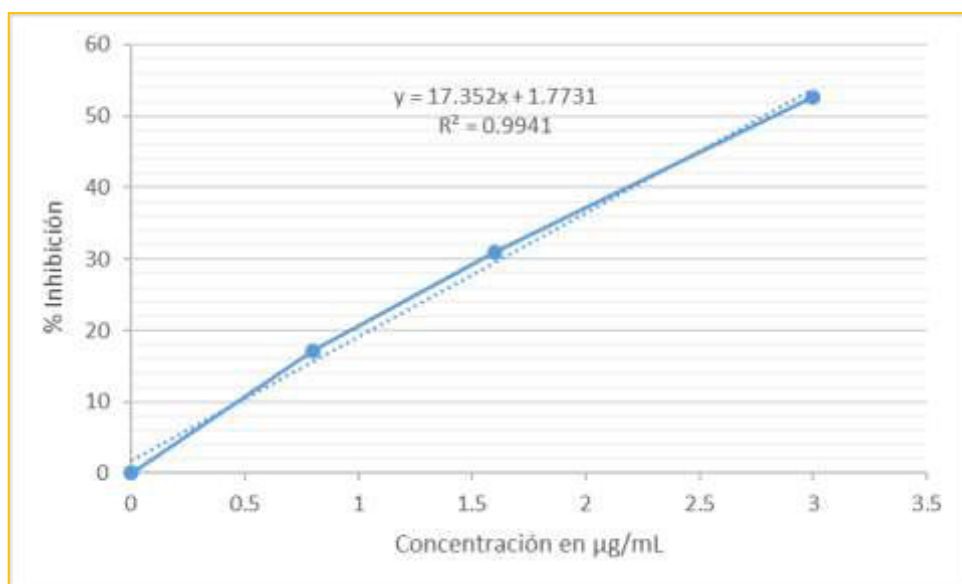
Absorbancias						
HSD Tukey <sup>a</sup>						
Concentracion	N	Subconjunto para alfa = 0.01				
		1	2	3	4	5
1%	3	.252367				
0.5%	3		.416833			
0.25%	3			.516233		
0.3125%	3				.569000	
0 %	3					.642200
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

**Figura 22:** Subconjuntos homogéneos del ABTS del aceite en estudio.

#### Anexo 10: Curva de la actividad antioxidante de Trolox por el método ABTS



**Figura 23:** Curva de la actividad antioxidante por ABTS de Trolox®.



### Anexo 11: Análisis de ANOVA y Post Hoc Tukey del ABTS de Trolox®.

ANOVA					
Absorbancias					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,230	3	,077	439,376	,000
Dentro de grupos	,001	8	,000		
Total	,231	11			

**Figura 24:** Análisis de ANOVA del ABTS del Trolox®

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Absorbancias						
HSD Tukey						
(I) Concentracion	(J) Concentracion	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/mL	0.8 ug/mL	.1100333*	.0107855	,000	.062720	.157347
	1.6 ug/mL	.2066333*	.0107855	,000	.159320	.253947
	3 ug/mL	.3770667*	.0107855	,000	.329753	.424380
0.8 ug/mL	0 ug/mL	-.1100333*	.0107855	,000	-.157347	-.062720
	1.6 ug/mL	.0966000*	.0107855	,000	.049286	.143914
	3 ug/mL	.2670333*	.0107855	,000	.219720	.314347
1.6 ug/mL	0 ug/mL	-.2066333*	.0107855	,000	-.253947	-.159320
	0.8 ug/mL	-.0966000*	.0107855	,000	-.143914	-.049286
	3 ug/mL	.1704333*	.0107855	,000	.123120	.217747
3 ug/mL	0 ug/mL	-.3770667*	.0107855	,000	-.424380	-.329753
	0.8 ug/mL	-.2670333*	.0107855	,000	-.314347	-.219720
	1.6 ug/mL	-.1704333*	.0107855	,000	-.217747	-.123120

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.01.

**Figura 25:** Post Hoc Tukey del ABTS de Trolox®.



Absorbancias					
HSD Tukey <sup>a</sup>					
Concentracion	N	Subconjunto para alfa = 0.01			
		1	2	3	4
3 ug/mL	3	.318467			
1.6 ug/mL	3		.488900		
0.8 ug/mL	3			.585500	
0 ug/mL	3				.695533
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.					

**Figura 26:** Subconjuntos homogéneos del ABTS de Trolox®